

別記様式第 6 号（第 16 条第 3 項，第 25 条第 3 項関係）

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医 学 ）	氏名	津島 健
学 位 授 与 の 条 件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目 Comparison of intracellular responses between HBV genotype A and C infection in human hepatocyte chimeric mice （ヒト肝細胞キメラマウスにおける HBV 遺伝子型 A および C 感染間の細胞内応答の比較）			
論文審査担当者			
主 査 教 授	大 段 秀 樹	印	
審査委員 教 授	坂 口 剛 正		
審査委員 教 授	田 中 純 子		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>B 型肝炎ウイルス（HBV）はヘパドナウイルス科に属する DNA ウイルスであり、ウイルス粒子内に 3.2kb の環状の一部分 2 本鎖 DNA を保有している。WHO からの報告によると、現在、2 億 5000 万人以上の人々が HBV に持続感染し、年間 887,000 人が HBV 関連肝疾患及びその合併症で死亡していると推定されており、世界的な健康問題の一つと考えられている。そのため、本邦では 1986 年より HBV の母子感染予防を目的に HBV 持続感染の母親から出生した児に対するワクチン接種が開始され、若年層における HBV 持続感染者は著明に減少している。一般に、HBV 感染は成人後感染の場合一過性感染に止まるとされているが、HBV 遺伝子型 A では成人後の急性感染であっても慢性化の頻度が高いとされる。従来、本邦での B 型急性感染例の多くは、遺伝子型 B または C の感染であったことから一過性感染で終息すると考えられてきたが、近年では HBV 遺伝子型 A 感染例が半数以上を占めるようになり、成人後の持続感染例の増加が危惧されている。そのため、持続感染を予防することも現在の診療において重要なポイントと考えられるが、HBV 遺伝子型による臨床病態や抗ウイルス薬に対する反応性の相違が生じるメカニズムは明らかとなっていない。筆者は、HBV 感染に伴いヒト肝細胞内で生じる細胞内応答の HBV 遺伝子型による相違を解析し、臨床病態や抗ウイルス薬に対する反応性への影響を明らかにすることを目的として研究を行った。</p> <p>マウス肝細胞でのプラスミノーゲンアクチベーターの発現により、生後肝不全を発症する SCID マウス（uPA/SCID マウス）に対しヒト肝細胞を移植し、マウス肝臓の 95%以上がヒト肝細胞に置換されたヒト肝細胞キメラマウスを 10 頭準備し、HBV 遺伝子型 A または HBV 遺伝子型 C を含有する血清を接種し、HBV 持続感染マウスを作製した（遺伝子型 A : 5 頭、遺伝子型 C : 5 頭）。また、コントロールとして HBV 非感染ヒト肝細胞キメ</p>			

ラマウスを 5 頭準備した。HBV を接種したマウスでは、2 週間毎にマウス血清の HBV DNA 量をリアルタイム PCR にて定量し、HBV DNA 量が  $10^8$  copies/ml 以上でプラトーに達したのを確認後、マウス肝臓からヒト肝細胞部分を採取し、total RNA を抽出した。次世代シーケンス解析にて細胞内の遺伝子発現プロファイルを取得後、HBV 感染・非感染マウスにおける遺伝子発現プロファイルの相違を比較した。

HBV 遺伝子型 A および C 感染に伴い、それぞれ 780、208 遺伝子で有意な発現変化を認めた。HBV 遺伝子型 A 感染では、CXCL1、CFTR、LCN2 などの遺伝子において非感染マウスに比べ、100 倍以上の発現亢進が認められ、一方、遺伝子型 C 感染では CCL2、CXCL1、CXCL8 などの遺伝子で 100 倍以上の発現が亢進していた。HBV 感染に伴い発現が亢進した遺伝子の多くは、遺伝子型 A および C で共通して発現亢進が認められ、CXCL6、CXCL11、CXCL8 などの免疫応答に関与するケモカインの一部は、HBV 遺伝子型 A および遺伝子型 C 感染によりほぼ同程度の発現レベルの変化であった。一方、LCN2、LYZ など 326 遺伝子は、HBV 遺伝子型 C よりも遺伝子型 A において有意に高い発現を示し、CCL2、CXCL9 および CXCL10 など 32 遺伝子は、HBV 遺伝子型 C において有意に高い発現を示した。そこで、細胞内応答の違いをより明確に理解するために、遺伝子型により発現レベルの変化が有意に異なった遺伝子のみを抽出し、PANTHER ソフトウェアを使用して HBV 遺伝子型特異的に制御される Pathway の同定を行った。その結果、ケモカインおよびサイトカインシグナル伝達経路によって媒介される p53 経路および炎症に関連する遺伝子は、遺伝子型 A 感染により強く誘導を受け、CCKR signaling map、Oxidative stress response、Wnt signaling pathway に関連する遺伝子は、HBV 遺伝子型 C により強く誘導されることが明らかになった。

以上の結果から、本論文は HBV 感染後のヒト肝細胞内の遺伝子発現変化を解析し、HBV 遺伝子型による細胞内応答の相違を明らかにし、この相違が HBV 遺伝子型による臨床経過や治療反応性の相違に関与している可能性を示した点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。